

УДК 547.9:612.397:678.012

О.Ю. Галкін, Л.Б. Бондаренко, О.М. Дуган

## БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО СТВОРЕННЯ І ВИКОРИСТАННЯ ЛІПОСОМАЛЬНИХ І ПЕГІЛЬОВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ

### Вступ

На сьогодні обов'язковими критеріями, що обумовлюють можливість застосування лікарського засобу (ЛЗ) у клінічній практиці, є його ефективність, безпечність та якість, які встановлюються за результатами відповідних досліджень (біоеквівалентності, фармакологічних, токсикологічних, клінічних випробувань та досліджень *in vitro*). Ефективність і безпечність лікарського препарату адресується до ефективності його дії на ту чи іншу клітинну мішень та збереження високого рівня активності при застосуванні *in vivo*.

Досить часто при розробці нового ЛЗ питанням його доставки до мішені приділяється невідповідно мало уваги. В той же час, цілком зрозуміло, що успіх може мати лише препарат, який одночасно буде характеризуватися високою активністю *in vitro*, біодоступністю та специфічністю. Слід зазначити, що сучасні знання про механізми внутрішньоклітинного транспорту і молекулярної організації клітинної поверхні дають можливість розробляти нові, більш ефективні, технології направленої доставки ліків. Використання таких підходів має на меті підвищити специфічність дії препаратів і тим самим знизити їх токсичність, а також зменшити концентрації діючих речовин [1, 2].

Ефективна внутрішньоклітинна доставка ЛЗ є особливо актуальною при терапії онкологічних захворювань [1–3]. Низька специфічність, первинна і набута в процесі лікування резистентність пухлинних клітин до хіміопрепаратів є одною з основних причин, які істотно обмежують ефективність протипухлинної хіміотерапії.

Системи цілеспрямованої доставки — це лікарські форми, що доставляють лікарську речовину в уражену ділянку організму, до органу, тканини, клітини-мішені в точно регульованих кількостях та забезпечують кероване вивільнення ЛЗ. У системах доставки лікарська речовина перебуває у взаємодії з іншим речовинами або з пристроєм для введення речови-

ни. Внаслідок вибіркового накопичення лікарської субстанції в патологічному вогнищі підвищується її ефективність, зменшується витрата, усуваються можливі небажані ефекти на здорові органи і тканини.

### Постановка задачі

Мета дослідження полягає в аналізі підходів до підвищення селективності фармацевтичних препаратів, які базуються на направленому транспорті діючих речовин до клітин-мішеней за допомогою використання ліпосомальних та пегільованих форм лікарських засобів.

### Ліпосомальні лікарські форми

Здатність ліпосом вміщувати в собі різні речовини практично без будь-яких обмежень щодо їх хімічної природи, властивостей і розміру молекул дає унікальні можливості для вирішення деяких медико-біологічних проблем. Так, багато лікарських препаратів характеризуються низьким терапевтичним індексом: концентрація, в якій вони чинять лікувальну дію, мало відрізняється від концентрації, при якій препарат стає токсичним. В інших випадках лікарський препарат при введенні в організм може швидко втрачати активність під дією інактивуювальних агентів. Введення таких препаратів у ліпосоми може значно підвищити їх терапевтичну ефективність, оскільки, з одного боку, вони, знаходячись у ліпосомі, захищені її мембраною від дії несприятливих чинників, а з іншого, — та сама мембрана не дає можливості токсичним препаратам перевищувати допустиму концентрацію в біологічних рідинах організму. Ліпосома в даному випадку виконує роль сховища, з якого препарат вивільняється поступово, в потрібних дозах і протягом необхідного проміжку часу [4–5].

З погляду на біологічну сумісність, ліпосоми ідеальні як переносники лікарських препаратів. До їх переваг можна віднести такі характеристики, як природна біосумісність фосфоліпідного матеріалу ліпосом, який є основним компонентом ліпідного матриксу біомембран, біодеградація до рівня продуктів, метаболізм яких припускає утилізацію до води і вуглекислоти, а також атоксичність і неантигенність та добра солюбілізація. За певних умов ліпосоми можуть поглинатися клітинами, а їх мембрана може зливатися з клітинною мем-

браною, що приводитиме до внутрішньоклітинної доставки їх вмісту [6].

Слід зазначити, що ліпосоми не затримуються такими органами, як серце, нирки, мозок, а також клітинами нервової системи, що дає можливість за рахунок використання ліпосомальних лікарських форм значно знизити кардіотоксичність, нефротоксичність і нейротоксичність цінних препаратів, вживаних для протиракової терапії.

Недоліком же ліпосомальних форм є погані фармакінетичні показники, зумовлені нестабільністю ліпосом, їх швидкою опсонізацією при внутрішньовенному введенні і подальшим захопленням клітинами ретикулоендотеліальної системи (РЕС). З цієї ж причини ліпосомні носії, зазвичай, не вдається направити саме в ті органи і тканини, в яких відбувається патологічний процес [7].

Як відомо, фармакокінетика інкапсульованих у ліпосоми ліків визначається взаємодією двох чинників: швидкістю виведення з плазми (кліренсом) ліпосомального препарату і стабільністю з'єднання ліпосом із ліками в кров'яному руслі. Цей процес залежить від властивостей препарату і ліпосомального носія, а саме від розміру ліпосом і їх фізико-хімічних властивостей, проникності окремих тканин, природи зв'язку між ліпосомою і лікарською речовиною [5, 8]. Якщо поверхню ліпосом зробити гідрофільною за рахунок ковалентно зв'язаного поліетиленгліколя (ПЕГ), то можна захистити їх від ретикулоендотеліальної системи, що, у свою чергу, приводить до збільшення тривалості напівперіоду існування препарату в кров'яному руслі і повільного проникнення його в пухлинну тканину [9]. ПЕГ-покриття ліпосом також гальмує білково-опосередковане зв'язування з клітинами. Схема стерично стабілізованої ліпосоми виглядає так: білки не можуть досягти поверхні ліпосом через надмірний осмотичний тиск у примембранному просторі, що створюється гнучкими ланцюгами іммобілізованих полімерів, наприклад ПЕГ.

Ліпосоми подають великі надії в доставці цитотоксичних препаратів вибірково в тканину пухлини. У зв'язку з цим слід зупинитися на механізмі вибіркового накопичення ліпосомальних форм цитостатиків у пухлинній тканині. Фізіологія великих пухлин відрізняється від фізіології нормальних тканин багатьма істотними аспектами [6, 10]. На відміну від регулярної, впорядкованої васкуляризації нормальних тканин судини пухлин часто є аномальними,

деформованими капілярами з проникними стінками і сповільненим кровотоком. Зростання пухлин безперервно збільшує і зростання нових судин. Ці відмінності у фізіології можуть створити проблеми при лікуванні раку. Наприклад, гіпоксія у великих пухлинах викликає резистентність до променевої терапії і до деяких протипухлинних препаратів. Проте ці відмінності можуть бути використані для селективного лікування раку, а саме: проникні кровоносні судини пухлин зумовлюють застосування ліпосом різного складу, в тому числі й стерично стабілізованих. У більшості нормальних тканин проникнення частинок обмежується безперервним ендотеліальним вистиланням судин [11]. Крупні частинки і ліпосоми, діаметром більше 250 нм, практично не проникають крізь капіляри, навіть якщо міжклітинні контакти і пори в ендотелії досить великі. Щільні міжклітинні контакти (2–6 нм) між ендотеліальними клітинами і більшістю нормальних тканин перешкоджають екстравазації навіть дуже дрібних ліпосомальних частинок (до 30 нм діаметром). Наприклад, тканини, багаті синусоидами і капілярами (печінка, селезінка, кістковий мозок), або патологічні тканини з пошкодженими чи зміненими капілярами проникні для частинок діаметром менше 100 нм. Багато первинних і метастатичних пухлин мають переривчасту і високопроникну систему судин, достатню для виходу дрібних частинок, в тому числі й ліпосомальних.

Таким чином, фізіологія судин визначає підвищений рівень поглинання в печінці, селезінці і пухлинних тканинах. Саме цим фактом і пояснюються причини вибіркового накопичення в пухлинах цитостатиків, введених у ліпосоми. Як виявилось, локалізація ліпосом у пухлинах є результатом підвищеного ступеня проникнення через проникні капіляри пухлин у поєднанні з порушенням лімфатичного дренажу [12, 13]. Специфічна структура кровоносних судин у пухлинах і невеликий розмір ліпосом приводять до стійкого накопичення ліпосомальної лікарської речовини в пухлині, забезпечуючи цим пасивну направлену доставку і підвищення терапевтичної ефективності препаратів. Як показали морфологічні дослідження великих і асцитних пухлин, присутність ПЕГ-ліпосом обмежується переважно позаклітинною рідиною пухлин, і вони поступово вивільняють лікарську речовину в зоні пухлин [9, 14].

Слід зазначити, що ліпосоми можуть використовуватися не тільки для цілеспрямованої

доставки протипухлинних препаратів. У разі застосування ліпосомальних вакцин імунна відповідь посилюється внаслідок того, що антигени, які асоційовані з ліпосомами, потрапляють безпосередньо в антигенпрезентуючі клітини. Однією з перших була розроблена ліпосомальна вакцина проти гепатиту А [15]. У ліпосому вводили, крім антигену (вірусного капсиду), ще й білки, які сприяли злиттю мембран ліпосом з клітинами, — гемаглютенін вірусу грипу. Для таких препаратів сьогодні часто використовується термін “віросоми”. Віросоми повторюють природний шлях вірусної частинки, внаслідок чого на поверхні антигенпрезентуючої клітини експонується фрагмент антигену в складі з антигенами МНС II, тобто у вигляді, який пізнається Т-хелперами. Ліпосоми дають можливість конструювати полівалентні вакцини, наприклад, проти кількох штамів грипу, гепатиту А і В, дифтерії, правця [16].

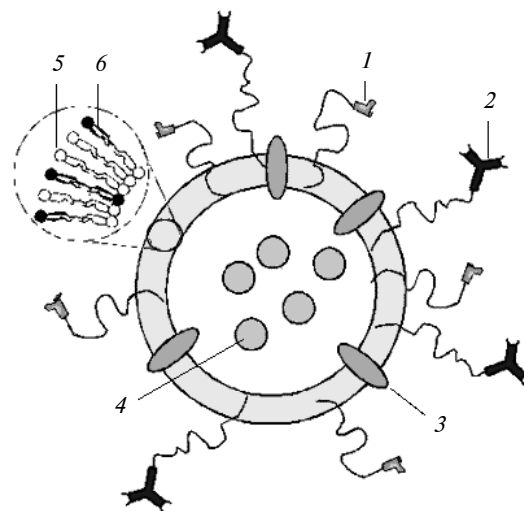
Перспективним є використання ліпосом у генотерапії [17, 18]. Вони в доставці генетичного матеріалу виступають і як захист від нуклеаз, і як компактизуючий засіб (позитивно заряджені ліпосоми), і як ініціатор ендозитозу. Відомо, що найважливішим етапом процесінгу віросоми є злиття її мембрани з мембраною ендосоми, що відбувається під дією гемаглютеніну. При цьому вміст ліпосоми потрапляє в цитозоль, тобто уникає лізосомальних ферментів. Саме цей шлях вважається переважним для ліпосом, навантажених генетичним матеріалом. Ліпосоми розглядаються як найперспективніші носії. Деякі композиції виявляються порівнянними за ефективністю трансфекції з аденовірусними векторами [6].

У багатьох випадках, і для генної терапії не в останню чергу, важливою є адресна доставка в потрібний тип клітин. За “молекулярну адресу” найчастіше обирають імуноглобуліни, що мають відповідні мішені на цільових клітинах.

За допомогою ліпосом в організм можуть бути також введені різні білки, зокрема ферменти, з метою ензимотерапії і цитокіни для корекції імунного статусу організму. Досить серйозні роботи проводяться зі створення ліпосом, які містять у собі гемоглобін (гемосом), щоб отримати штучні замінники крові [5].

У статті [6] описано модель “ідеальної” ліпосоми як засобу направленої доставки лікарської речовини в клітину (рисunek). Такі ліпосоми містять у внутрішньому об’ємі лікарську речовину, наприклад ДНК у випадку ген-

ної терапії, іммобілізовані на її поверхні гнучкі ланцюги полімеру для зменшення поглинання клітинами РЕС, молекулярну адресу, інкорпоровані в мембрану білки злиття. Крім того, мембрана складається не тільки із звичайних фосфоліпідів, які створюють бішар (найчастіше — це фосфатидилхолін), але й ліпідів, що сприяють злиттю з мембраною клітини (наприклад, діолеїлфосфатидилетаноламін).



Модель “ідеальної” ліпосоми: 1 — полімер для стеричного захисту від клітин ретикулоендотеліальної системи; 2 — молекулярна адреса; 3 — інкорпоровані в мембрану білки злиття; 4 — лікарська речовина; 5 — бішар фосфоліпідів; 6 — ліпіди, які сприяють злиттю з мембраною клітини

### Пегільовані лікарські засоби

Одним із способів підвищення ефективності лікарських препаратів білкової структури (інтерферонів, гормонів, факторів росту, цитокінів та ін.) є хімічна модифікація їх молекули, яка адресована не до зміни їх структури, а до фізико-хімічної трансформації нативної молекули з поліетиленгліколем (ПЕГ). Подібна хімічна модифікація фармакологічних препаратів пептидної структури цілеспрямовано направлена на поліпшення їх переносності, зниження імуногенності, підвищення періоду їх напівжиття [19].

ПЕГ може бути зв’язаний з протеїном у кількох позиціях, проте деякі з них є премійованими. Так, наприклад, найчастіше ковалентне з’єднання з білком (інтерферон альфа-2b) відбувається переважно в місці атома азоту  $\epsilon$ -аміногрупи лізину або в місці імідазольної групи гістидину. Такі зв’язки дають можливість активувати гідроксильні групи ПЕГ і збудувати

молекулу, в якій цільові місця мають ковалентні зв'язки. Крім того, прямі ковалентні зв'язки ПЕГ в місці положення лізину і аргініну (карбоксильні кінці) безпосередньо перешкоджають розщеплюванню модифікованих молекул трипсином [20].

Ще один із найважливіших ресурсів пегільованих молекул — висока гідрофільність, яка зумовлює принципово нові фізико-хімічні властивості зміненого пептиду. Високий вміст атомів водню навіть в одній молекулі ПЕГ дає змогу їй зв'язуватися з двома-трьома молекулами води. Подібний ефект веде до формування “водної хмари” навколо модифікованої молекули, за рахунок чого значно підвищується її гідродинамічний радіус. Цей своєрідний щит води навколо модифікованої молекули, з одного боку, значно підвищує розчинність і біодоступність препарату, а з іншого, — захищає молекулу від інших білків (нейтралізуючих антитіл, комплементу). Таким чином, пегільовані пептиди є значно більш захищеними від опсонізації, активного фаго- та ендоцитозу клітинних структур макроорганізму. Найчастіше для зв'язку пептидних молекул використовується монометоксиполіетиленгліколь, його молекула має одну гідроксильну групу, з якою і відбувається кон'югація білка. В інших місцях молекули ПЕГ містяться нереактогенні метильні групи [20, 21].

Зміни фармакокінетичних і фармакодинамічних властивостей пегільованих пептидів залежать як від маси молекули ПЕГ, так і від специфічних місць зв'язку. Наприклад, продемонстрована пряма кореляція між масою молекули ПЕГ і періодом напівжиття пептиду: збільшення даного показника коливається від трьох-п'яти разів (урікази, стрептокінази) до майже 500 разів (супероксиддисмутази) [22, 23]. Ще одним важливим чинником, який впливає на фармакодинаміку і фармакокінетику ПЕГ-модифікованих пептидів, є структура ПЕГ-ланцюжків: розгалужена молекула ПЕГ формує уповільнення активного метаболізму препарату, що також веде до подовження часу активної циркуляції препарату. З розгалуженою структурою ланцюжків ПЕГ зв'язана також і значно менша імуногенність модифікованих препаратів при збереженні їх основних фармакологічних властивостей. Подібні ефекти можуть бути досягнуті й іншим способом — кон'югацією пептиду з кількома молекулами ПЕГ з лінійною структурою ланцюжків [20–22]. Добре вивченим прикладом у даному випадку є інтер-

лейкін-2 (ІЛ). Оскільки молекула ІЛ-2 дуже мала, то вона вільно фільтрується нирками і має дуже короткий період напівжиття. З'єднання ІЛ-2 з ПЕГ з молекулярною масою, більшою 20 кДа, практично ніяк не впливає на фармакодинаміку білка, але підвищення молекулярної маси ПЕГ до 60–70 кДа вже значно уповільнює фільтрацію кон'югата і збільшує його час напівжиття і біологічну доступність [24].

Сучасні технології пегілювання біологічно активних пептидних молекул значно розширили області їх сьогодення і майбутнього практичного застосування. Поява ПЕГ-модифікованих пептидів дала змогу сформувавши ряд фармакодинамічних і фармакокінетичних ефектів, поява яких раніше для конкретного пептиду була практично недосяжною мрією. Яскравим прикладом цього можуть служити результати вже проведених клінічних випробувань з пегільованими еритроцитами, інтерфероном альфа-2b, аденозиндезаміназою та розчинним рецептором фактора некрозу пухлин [25–28].

**Пегільовані еритроцити.** Найбільш актуальною є проблема переливання еритроцитів крові в пацієнтів, які одержують трансфузії в хронічному режимі. Це пацієнти із серпоподібноклітинною анемією/таласемією, пацієнти, які перебувають на гемодіалізі через хронічну ниркову недостатність. Очевидно, що дана група пацієнтів найбільшою мірою схильна до зовнішньої антигенної агресії і ризику формування алоімунізації [19]. Створення і клінічне випробування ПЕГ-модифікованих еритроцитів було покликано допомогти вирішити дану проблему. Фізико-хімічна структура ПЕГ, пов'язана з його в'язкісними властивостями, високою стабільністю молекули та гідродинамічними параметрами, дала можливість створити високоефективний кон'югат з еритроцитами. Короткі і лінійні ланцюги ПЕГ в експерименті дозволили “закривати” Rh-фактор та інші поверхневі антигени еритроцита, а довгі ланцюги сприяли блокуванню адгезії еритроцитів між собою і ендотелієм судин. Крім того, довгі ланцюги ПЕГ перешкоджали власне пошкодженню еритроцитів та їх деформації в судинному руслі. Розгалужені ж ланцюги ПЕГ з щільними ареактогенними зонами блокували скріплення зовнішніх антитіл і інтенсивність їх продукції відносно еритроцитів, які вводилися ззовні. Отримані таким чином ПЕГ-еритроцити показали свою високу ефективність і на тваринних моделях, і в дослідженнях на людях. Крім того, не було помічено ніяких побічних ефектів, за-

звичай супутніх гемотрансфузіям, при цьому достовірно поліпшувалися показники загальної гемодинаміки, тривалішою була кисне транспортна функція клітин і значно поліпшувалися показники параметрів реологій. Слід зазначити, що даними дослідженнями було закладено фундамент у створення інших пегільованих клітин крові, які знайдуть практичне застосування, зокрема, у випадках реакцій "трансплантат проти хазяїна" [27].

**Пегінтерферон альфа-2b.** Противірусна терапія — ще одна галузь перспективного використання пегільованих препаратів пептидної структури. Традиційний режим введення інтерферону-альфа — 3 млн МО три рази на тиждень. При цьому слід зазначити, що максимальна концентрація препарату після підшкірного введення визначається в межах 8–12 год, а період його напівжиття в середньому становить 6 год. При цьому очевидно, що разом із періодами стабільної концентрації препарату існують і періоди, де його рівень у сироватці крові і біологічних тканинах може знижуватися практично до невизначуваних значень. Логічно припустити, що для досягнення прийнятної терапевтичного рівня нативного екзогенного інтерферону (ІФН) необхідна принципова зміна параметрів його фармакокінетики і фармакодинаміки. Така постановка питання зумовила створення принципово нової лікарської форми інтерферону альфа-2b в кон'югаті з ПЕГ. Пегільований ІФН має значно кращий біологічний профіль, ніж звичайний інтерферон. Це виражається значним підвищенням періоду напівжиття пегільованого аналога та зниженням його імуногенних властивостей. Приєднання відносно невеликої молекули ПЕГ з молекулярною масою 12 кДа до інтерферону *in vivo* показало, що максимальна концентрація білка при використанні такого кон'югата досягається через 15–44 год і зберігається протягом 48–72 год. Таким чином, період ефективного напівжиття препарату становить у середньому близь-

ко 40 год. Уповільнення кліренсу ПЕГ-інтерферону з плазми забезпечує циркуляцію його в крові протягом тижня. Саме такі фармакокінетичні і фармакодинамічні параметри препарату забезпечують реально вищу ефективність ПЕГ-інтерферону альфа-2b порівняно із стандартним аналогом. Крім того, молекулярна маса ПЕГ 12 кДа забезпечує препарату не тільки печінковий, але й нирковий кліренс. Ще одна принципово важлива перевага пегільованого ІФН альфа-2b перед звичайним рекомбінантним — можливість його використання при цирозах печінки, адже саме з цією хворобою пацієнти, як правило, були позбавлені можливості проведення повноцінної противірусної терапії.

Таким чином, для пегільованого інтерферону альфа-2b характерним є баланс між противірусною активністю і тривалим періодом напіввиведення, що дає змогу призначати препарат один раз на тиждень, а також ефективно виводити метаболіти ПЕГ з організму [19, 23, 28].

## Висновки

У статті проаналізовано підходи до створення систем цілеспрямованої доставки лікарських засобів із використанням ліпосом і пегільованих форм. Основною проблемою при використанні ліпосомальних препаратів є погані фармакокінетичні показники, зумовлені нестабільністю ліпосом, їх швидкою опсонізацією при внутрішньовенному введенні і подальшим захопленням клітинами ретикулоендотеліальної системи. Дана проблема вирішується переважно завдяки ковалентному зв'язуванню з поліетиленгліколем, який надає ліпосомам гідрофільні властивості.

Подальший аналіз може адресуватись до вивчення механізмів доставки біологічно активних речовин до клітин-мішеней за механізмом рецептор-опосередкованого ендоцитозу.

А.Ю. Галкин, Л.Б. Бондаренко, А.М. Дуган

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ И ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ И ПЕГИЛИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

Обобщены литературные данные относительно подходов к созданию систем целенаправленной доставки лекарственных средств, основанных на

O.Yu. Galkin, L.B. Bondarenko, O.M. Dugan

BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES TO CREATING AND USING LIPOSOMAL AND PEGYLATED DRUG FORMULATIONS

We analyze and summarize the data on the approaches to creating the system of drug delivery, based on using liposomal and pegylated drug formu-

использовании липосомальных и пегилированных форм. Рассмотрены подходы к использованию систем направленной доставки при создании антиканцерогенных, антибактериальных и иммуномодулирующих препаратов.

lations. We also consider the approaches to utilizing the drug delivery system for creating anticancer, antibacterial preparations and immunomodulators.

1. *Ranade V.V., Hollinger M.A.* Drug delivery systems. – CRC Press, 2003. – 520 p.
2. *Северин Е.С., Родина А.В.* Проблемы и перспективы противоопухолевой терапии // Успехи биологической химии. – 2006. – **46**. – С. 43–64.
3. *Tse K., Horner A.* Update on toll-like receptor-directed therapies for human disease // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2007. – **66**, N 3. – P. 77–80.
4. *Кобринский Г.* Липосомы в медицине // Наука и жизнь. – 1988. – № 6. – С. 32–36.
5. *Барсуков Л.И.* Липосомы // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 10. – С. 2–9.
6. *Каплун А.П., Ле Банг Шон, Краснопольский Ю.М. и др.* Липосомы и другие наночастицы как средство доставки лекарственных веществ // Вопросы медицинской химии. – 1999. – № 4(1). – С. 3–12.
7. *Дудниченко А.С.* Перспективы использования липосомальных форм противоопухолевых препаратов // Провизор. – 2000. – № 19. – С. 34–37.
8. *Барышников А.Ю., Оборотов Н.А.* Иммунолипосомы – новое средство доставки лекарственных препаратов // Современная онкология. – 2003. – **3**, № 2. – С. 12–15.
9. *Gabison A., Goren D., Cohen R. et al.* Development of liposomal anthracyclines: from basics to clinical applications // *J. Controlled Release*. – 1998. – **53(1–3)**. – P. 275–279.
10. *Brown I.M., Giaccia A.I.* The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy // *Cancer Res*. – 1998. – **58(7)**. – P. 1408–1416.
11. *Forssen A., Ross M.* Daynoxome – anticancer therapy solid tumours // *J. liposome research*. – 1994. – **4(1)**. – P. 481–512.
12. *Jain R.K.* Vascular and interstitial barriers to delivery of therapeutic agents in tumors // *Cancer Metastasis Rev*. – 1990. – **9**. – P. 253–266.
13. *Yuan F., Dellian M., Fukumura D. et al.* Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size // *Cancer Res*. – 1995. – **55**. – P. 3752–3756.
14. *Huang S.K., Lee K.D., Hong D.S. et al.* Microscopic localization of sterically-stabilized liposomes in colon carcinoma-bearing mice // *Ibid.* – 1992. – **52**. – P. 5135–5143.
15. *Gluck R.* The Submit and Adjuvant Approach / Vaccine Design. Editors M.F. Powell, M.J. Newman. – Plenum Press, 1995. – P. 325–345.
16. *Gregoriadis G.* Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems // *Trends Biotechnol.* – 1995. – **13**. – P. 527–537.
17. *Lee T.W.R., Matthews D.A., Brair G.E.* Novel molecular approaches to cystic fibrosis gene therapy // *Biochem. J.* (Printed in Great Britain). – 2005. – **387**. – P. 1–15.
18. *Driskell R.A., Engelhardt J.F.* Current status of gene therapy for inherited lung diseases // *Annu. Rev. Physiol.* – 2003. – **65**. – P. 585–612.
19. *Никитин И.Г., Сторожак Т.Н.* Пегилированные лекарственные препараты: современное состояние, проблемы и перспективы // Вирусные гепатиты. – 2001. – № 3(13). – С. 20–24.
20. *Reddy R.* Controlled-release, pegylated, liposomal formulations: new mechanisms in the delivery of injectable drugs // *Ann. Pharmacol.* – 2000. – **34**. – P. 915–923.
21. *Delgado C., Francis G.E., Fisher D.* The uses and properties of PEG-linked proteins // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* – 1992. – **9(3, 4)**. – P. 249–304.
22. *Bruce A.* Clinical considerations in pegylated protein therapy // *From Reserch to Practice*. – 2001. – **3(1)**. – P. 3–9.
23. *Muggia F.* The Benefits of pegylation in cancer and antiviral therapy // *Ibid.* – P. 1–3.
24. *Knauf M.J., Bell D.P., Hirtzer P. et al.* Relationship of effective molecular size to systemic clearance in rats of recombinant interleukin-2 chemically modified with water-soluble polymers // *J. Biol. Chem.* – 1988. – **263**. – P. 15064–15070.
25. *Edwards C.K.* PEGylated recombinant human soluble tumor necrosis factor receptor type I (r-HU-sTNF-RI): novel high affinity TNF receptor designed for chronic inflammatory diseases // *Ann. Rheum. Dis.* – 1999. – **58**. – P. 173M181.
26. *Hershfield M.S., Buckley R.H., Greenberg M.L. et al.* Treatment of adenosine deaminase deficiency with polyethylene glycol-modified adenosine deaminase // *N. Engl. J. Med.* – 1987. – **316**. – P. 589–596.
27. *Scott M.D., Bradley A.J., Murad K.L.* Camouflaged blood cells: low-technology bioengineering for transfusion medicine // *Transfus. Med. Rev.* – 2000. – **14 (1)**. – P. 53–63.
28. *Glue P., Fang J., Sabo R et al.* Peg-interferon-alfa2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and preliminary efficacy data // *Hepatology*. – 1999. – **30**. – P. 189.